



TITLE:

霊長類のリンパ球抗原について(II 修士論文要旨)

AUTHOR(S):

村山, 裕一

CITATION:

村山, 裕一. 霊長類のリンパ球抗原について(II 修士論文要旨). 霊長類研究所年報 1985, 15: 35-36

ISSUE DATE:

1985-10-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/163572>

RIGHT:

しかし、実際には、野生群で父親を決定することは、集団内の遺伝的変異性の低さ、群外のオスを含む、生殖に関与するすべてのオスを確認し、採血することの困難さ、などの理由から、非常に困難である。そのため、野生群では、遺伝学的に父親を決定しようとする仕事は、なされてこなかった。

本研究では、従来より行っている、電気泳動法で検出される、血液中のタンパク質多型を支配する、33遺伝子座位を用いて、父権否定法により父権否定確率を計算し、それをもとに、今後の研究に十分な父親決定率をえるのに必要な座位数の推定を行った。

まず、霊長類研究所放飼場のアカゲザル、ニホンザル各3群で、計算で求めた父権否定確率と、実際に、父権否定法を適用して観察された父権否定率とを比較した。

6群のうち5群で、両者に有意差がみられた。しかし、有意差の原因については、野生群で必要な座位数を推定する時には、その影響が少なくなると考えられた。そこで、計算値から必要な座位数を推定することは、不適当ではない、と考えられた。

ニホンザル42群の父権否定確率は、平均で22.74% (1.92~50.17%)、カニクイザル19群の平均で、46.35% (16.76~71.51%)、トクモンキー7群の平均で、73.82% (62.66%~79.54%)であった。

オスの数を10と仮定した時に、80%の確率で、子供の父親を決定するためには、97.55%の父権否定確率が必要となる。

必要な座位数を推定する時には、現在と同じ変異性を持つ座位が、同じ頻度で、今後も検出されることを期待した。推定では、まず、座位当りの平均父権否定確率をもとに、必要な座位数の予想値を計算した。次に、乱数を用いて、現在のデータから、ある座位を選び出して、次々積算して、97.55%の確率が得られるまでくりかえす、という試行を100回行い、用いた乱数の数、すなわち、必要な座位数の平均値と最小値を求めた。

ニホンザルで、すべての群れのデータをひとまとめにして推定した時、予想値、平均値で現在の約14倍、100回の試行の最小値でも約10倍の座位が、さらに必要となることがわかった。

また、各群ごとに個別に推定した時には、推定の予想値、平均値で現在の4~190倍、最小値で

2~160倍の座位が、さらに必要となることがわかった。

カニクイザルでは、すべての群れをまとめて推定した時に、予想値、平均値で現在の約5倍、最小値で約3倍の座位が、さらに必要であることがわかった。

霊長類の中では、比較的変異性の高いトクモンキーでも、予想値、平均値で現在の約2倍、最小値で約0.7倍の座位が、さらに必要であることがわかった。

現在と同じ方法を用いて、座位数を現在の2倍に増やすことですら、時間的、技術的に不可能である。つまり、今回用いたような、血液中のタンパク質多型の電気泳動法による検出法のみを用いる限り、野生群で、十分な父親決定率を得ることは、事実上、不可能であることがわかった。

1座位当りの父権否定確率は、対立遺伝子数が多いほど高くなる。したがって、電気泳動法より変異の検出効率のよい方法を用いれば、父権否定確率を高めるのに有効であると考えられる。

Duvallら(1976)は、白血球抗原型を使って、Smith(1981, 1982)とCurie-Cohenら(1983)は、赤血球抗原型を使って、それぞれ、アカゲザルコロニーで、高い割合での父親決定に成功した。特にDuvallらが用いた白血球抗原型座位は、アカゲザルで、非常に変異性が高いことが知られている。ニホンザルでも、同様の抗原型の決定ができるようになれば、相当な割合で父親を決めることができるようになる可能性がある。

霊長類のリンパ球抗原について

村山 裕一

緒言

ヒトリンパ球抗原に対するモノクローナル抗体が作製され、リンパ球の機能の同定・分化の研究はもとより白血病の同定と治療法の確立などの臨床研究などに役立っている。これらヒト用モノクローナル抗体を用いて霊長類におけるリンパ球抗原決定基の進化について考察した研究がいくつかあり、抗原決定基の共有性と従来の霊長類の系統関係がおおよそ一致する事が示されている。しかし、多くのモノクローナル抗体をシリーズとして多種類の霊長類について調べた例や同属内変異の

様な分類の細部に関するデータはほとんどない。本研究では、10種のLeuシリーズモノクローナル抗体を用いて原猿から類人猿までの25種の霊長類リンパ球との交差反応性を調べた。また、マカカ属11種間での抗原決定基の発現性についても検討した。

材料と方法

原猿3種、新世界ザル6種、旧世界ザル14種、類人猿2種について調べた。各種霊長類から得たヘパリン-未梢血をFicoll-Conray液(比重1.077 g/ml)に重層し、400gで30分遠心後中間部の単核球層を採取した。数回洗浄後、 5×10^5 個の単核球に1μgの各蛍光標識モノクローナル抗体を加え、氷水中で1時間染色した。数回洗浄後、FACS(細胞自動解析分離装置)にて蛍光陽性細胞を抽出した。リンパ球分画にゲート設定を行ない、 1×10^4 個の細胞を数えた。コントロール細胞(抗体なし)より強い蛍光強度を持つ細胞群の百分率を求めた。

結 果

1) T細胞抗原

Leu1, Leu4, Leu5は汎T細胞と反応する。Leu1抗体はチンパンジー、シロテテナガザルとも反応し、Leu4抗体はチンパンジーのみと反応した。以上の抗体は類人猿のみと反応したが、Leu5抗体は類人猿、旧世界ザル、新世界ザルのすべてと反応した。しかし原猿類(オオガラゴ、スローロリス、ワオキツネザル)とは反応しなかった。Leu5抗体はヒツジ赤血球レセプターを認識すると考えられている。Leu5陽性細胞率-ヒツジ赤血球ロゼット形成細胞率の2次元プロットで類人猿-旧世界ザル、新世界ザル、原猿の3グループに大別される事を示した。またT細胞サブセット抗原を認識するLeu2抗体(サプレッサー/細胞障害性T細胞)は類人猿、旧世界ザルと反応した。Leu3抗体(ヘルパーT細胞)は類人猿、旧世界ザル、新世界ザル(ヨザルのみ)のリンパ球と反応した。また、11種のマカクでLeu3抗原の発現性に明確な差異が認められ、Leu3/Leu2比により(ヒトではこの比は 2.41 ± 1.02)3グループに分類することが可能であった。カニクイザル、ブタオザル、タイワンザルはグループ1(Leu3/Leu2<0.1)に属する。グループ2($0.1 < \text{Leu3/Leu2} < 0.1$)はニホンザル(ヤクザルを含む)、ア

カゲザル、ベニガオザル、チベットザル、シシオザルから成る。グループ3($\text{Leu3/Leu2} > 1.0$)にはバーバリーエイプのみが属する。

2) NK/K細胞抗原

Leu7及びLeu11抗体はNK/K(ナチュラルキラー/キラー)細胞と反応する。Leu7抗体は、その陽性率はヒトと比べて低いながらチンパンジーのみと反応した。一方、Leu11抗体は類人猿、旧世界ザル、新世界ザルと反応したが、原猿類とは反応しなかった。

(3) B細胞抗原

Leu10抗体はヒトB細胞/単球と反応する。この決定基はチンパンジー、シロテテナガザルにのみ見いだされた。Leu12抗体(B細胞)はチンパンジーのみと反応した。ヒト組織適合性抗原、HLA-DRのフレームワークに対する抗HLA-DR抗体(B細胞/単球)は今回調べたすべての霊長類と反応した。

考 察

Leuシリーズのヒトリンパ球抗原決定基の多くは、霊長類の進化過程で段階的に獲得されてきた事がわかった。霊長類の系統関係についていくつか考察を加えた。Croninらは主に電気泳動法による遺伝学的解析から14種のマカクを5つの大きな分類群に分けているが、本研究ではLeu3/Leu2比に基づいて11種のマカクを3グループに分類することが可能であった。このTサブセット細胞比による分類はCroninらの推定したマカクの系統関係とおおよそ一致した。また、新世界ザルでクモザルのヒト抗原決定基の共有率が、マーモセット・タマリンと等しく(20%)、ヒト抗原決定基の共有性と霊長類の系統的位置に不一致が見られた。

これらリンパ球抗原あるいは抗原決定基について、その構造はまだ明らかではないが、それらの化学構造が明らかにされれば、霊長類の進化過程における抗原決定基の獲得の詳細について考察することが可能であると考えられる。